

E. Schmitz .
Mainz 1972

Aus der II. Medizinischen Klinik der Johannes Gutenberg-
Universität

Untersuchungen von Haptoglobin, Caeruloplasmin und anderen
klinisch-chemischen Serumparametern bei Patienten mit
Cholestase und bei experimenteller Cholestase der Ratte
vor und nach Behandlung mit Puromycin.

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg - Universität Mainz

vorgelegt von

Eberhard Schmitz
aus Bad Dürkheim

M a i n z 1 9 7 2



Dekan:	Professor Dr. Bäßler
Referent:	Professor Dr. Prellwitz
Koreferent:	Professor Dr. Schölmerich

I. Einleitung und Fragestellung

II. Untersuchungsmethoden

A. Patientenkollektiv

B. Tierexperimente

C. Analytische Methoden

III. Ergebnisse

IV. Diskussion

V. Zusammenfassung

VI. Literatur

I. Einleitung und Fragestellung

Bei extra- und intrahepatischer Cholestase wurde verschiedentlich ein erhöhter Plasmaproteinspiegel nachgewiesen (12,36), der wahrscheinlich durch vermehrte hepatozelluläre Proteinsynthese zustandekommt. So zeigten RICHTER, LEINWEBER, KÜHN und andere bei Untersuchung der Einbaurate von ^{14}C -markierten Aminosäuren in Leberpunkturen bzw. Leberschnitte, daß sowohl bei Patienten mit Verschlusikterus (25) als auch bei Ratten mit durch Alpha-naphthylisothiocyanat erzeugter Cholestase (26) in vitro eine Erhöhung der Proteinsynthese in der Leber stattfindet.

Die gesteigerte Synthese kann Folge verschiedener Grundvorgänge sein:

1. kann nach POPPER (41,42) eine "anabole oder antikatabole" Reaktion des Hepatozyten vorliegen, wobei dies Ausdruck eines bestimmten Stadiums einer Lebererkrankung wäre und eventuell bei der Pathogenese eine gewisse Rolle spielen könnte. Ursache hierfür ist nach POPPER, SCHAFFNER (43,44,51) die bei der Cholestase eingeschränkte Fähigkeit der Canaliculus-nahen Mikrovilli, Gallensäuren mit Elektrolyten und Wasser zu sezernieren und die sekundär dadurch gestörte transmembranöse Abgabe von gallepflichtigen Stoffen (40). Die Gallensäuren sollen wahrscheinlich diese Proteinsynthesesteigerung induzieren.
2. kann diese Synthesesteigerung ein nicht-spezifisches Reagieren der Leber sein, quasi zur Kompensation eines durch Nekrose erlittenen Substanzverlustes, wobei auch eine mesenchymale Beteiligung (14) oder Stimulation durch eine akute-Phase-Protein (7) in Betracht kommt.

Bei Cholestase werden unter anderen folgende Proteine vermehrt im Blut gefunden und als ihre geläufigen klinisch-chemischen Parameter bestimmt:

alkalische Phosphatase (a Ph),
Leucin-aminopeptidase (LAP),
Pseudo-Cholinesterase (Ch E),
Haptoglobin (Hp),
Caeruloplasmin (Cae),
Fibrinogen (Fbg) und
einige andere Gerinnungsfaktoren.

Die Erhöhung der Aktivität der Transaminasen und der GldH - mit ihrer quantitativ unterschiedlichen Lokalisation in Zytoplasma und Mitochondrien - wird als Zeichen des Ausmaßes der Zellschädigung genommen (5). Die alkalische Phosphatase und die Leucinaminopeptidase dienen als Indikatoren der Sekretionsinsuffizienz. Die restlichen Proteine: Haptoglobin, Caeruloplasmin, Fibrinogen und die Gerinnungsfaktoren, Cholinesterase können über Sekretionsfähigkeit und Syntheseleistung der Leber Auskunft geben. Allerdings sind die drei Gruppen nicht streng voneinander zu trennen: so wird zum Beispiel für die alkalische Phosphatase (6, 19, 53) und die Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (4) gezeigt, daß auch eine durch Induktion vermehrte Synthese möglich ist. Bei der alkalischen Phosphatase kann die Verminderung eines die alkalische Phosphatase spaltenden proteolytischen Enzyms ursächlich beteiligt sein (52). Der Anstieg von Haptoglobin und Caeruloplasmin läßt sich als Folge einer Störung der zellulären Permeabilität oder der Galleelimination deuten (28).

Bei den Untersuchungen am Patientengut wurde gegenüber einer Kontrollgruppe die Veränderung von Serumwerten bei malignem und benignem Stauungsikterus und nach operativer Beseitigung von dessen Ursachen gemessen.

Als Indikatoren für die vermehrte Proteinbildung wurde die Serumkonzentration der Alpha₂-Globuline Haptoglobin und Caeruloplasmin gewählt, die bei Cholestase erhöht gefunden wurden (Haptoglobin: 18,45 Caeruloplasmin: 13,45,60). Haptoglobin ist ein Glykoprotein der Gruppe der Alpha₂-Globuline und wird in der Leber gebildet (4,23,38). Es schützt durch Bildung eines nicht nierengängigen Haptoglobin-Hämoglobin-Komplexes, dessen Clearance aus dem Plasma in der Leber erfolgt (31), den Organismus vor Hämoglobinverlusten, ist also als freies Haptoglobin bei hämolytischen Zuständen stark vermindert oder nicht nachweisbar (16, 34). Bei Entzündungen, Neoplasmen und Prozessen, die mit Nekrosen einhergehen, wurden erhöhte Werte beobachtet (23, 27). Bei chronischer Hepatitis und Leberzirrhose wurde eine Verminderung des Haptoglobinspiegels gesehen (23, 45).

Caeruloplasmin, quantitativ wichtigstes Transportmittel des Kupfers im Serum, gehört ebenfalls zu den Alpha-Glykoproteiden und wird wahrscheinlich - wenigstens zum Teil (58) - in den Mikrosomen der

Leberzellen gebildet (57). Außer der Transportfunktion für Kupfer scheint es noch eine katalytische Funktion im Eisenstoffwechsel zu haben (30). Bei allen stoffwechselstimulierenden Prozessen ist Caeruloplasmin erhöht (15), ebenfalls bei nekrobiotischen Vorgängen unterschiedlicher Genese (11). Beim morbus WILSON fehlt Caeruloplasmin wegen eines genetischen Defekts, bei Leberzirrhosen wurden verringerte Werte angegeben (45,60).

Als Vergleichswert zu den beiden Globulinen diene die Thromboplastinzeit nach QUICK.

Die Transaminasen und Eisen sollten über den Grad der Läsion des Hepatozyten aussagen.

Die Sekretionsfähigkeit wurde durch Messen des Kupferspiegels, des Bilirubins und der Aktivität der alkalischen Phosphatase beurteilt.

Als Modell für die menschliche Cholestase diene, wie schon früher beschrieben (10,21,26,47,49,55,56,59) die extra- und intrahepatische Cholestase der Ratte, die durch Unterbindung des Ductus choledochus bzw. durch Gabe von Alpha-naphthylisothiocyanat (ANIT) erzeugt wurde (Von ANIT ist bekannt, daß es nach kurzfristiger oraler Applikation in der Rattenleber zu Veränderungen führt, die einer menschlichen intrahepatischen Cholestase entsprechen (9,10,50,55,59). Auch die Untersuchung verschiedener Parameter im Rattenserum bzw. -plasma zeigt hierin eine Parallele (2,20). Vom Wirkmechanismus des ANIT weiß man nur, daß es den Sekretionsmechanismus des Hepatozyten beeinflusst (3) und daß es wahrscheinlich einer der stärksten Inhibitoren der mikrosomalen metabolisierenden Enzyme ist (39).

Hier wurde im Serum

1. als Maß für Sekretion und Synthesesteigerung Haptoglobin, Caeruloplasmin und Cholinesterase,
2. als Indikatorenzyme der Zellschädigung die Transaminasen und die Glutamatdehydrogenase,
3. als Sekretionsparameter Bilirubin, Kupfer, und die alkalische Phosphatase bestimmt.

Cholesterin wurde sowohl der letzten Gruppe zugeordnet als auch - wegen seiner Nachbarschaft in der zellulären Organellenstruktur - den Stoffen der gesteigerten Synthese. Orientierend wurden im Serum

zusätzlich die Konzentrationen von Eisen und Gesamt-Eiweiß und die Aktivitäten der Leucin-aminopeptidase (LAP) und der Lactat-Dehydrogenase (LDH) bestimmt.

Folgende Probleme waren von Interesse:

1. Ist die Synthesesteigerung der beiden Proteine Haptoglobin und Caeruloplasmin beim Menschen zu beobachten und auch bei experimenteller Cholestase nachweisbar ?
2. Läßt sich diese vermehrte Proteinbildung im Experiment durch Puromycin hemmen ?
3. Werden andere klinische Parameter durch diese Puromycinapplikation verändert, wie dies bereits bei verschiedenen Inhibitoren der Proteinsynthese beschrieben wurde (6,47), und bedeutet dies, daß Puromycin den Verlauf einer Cholestase abschwächen kann ?

II. Untersuchungsmethoden

A. Patientenkollektiv

Die Auswahl der Patienten wurde nach den laparoskopischen und leberbiopsischen Histologiebefunden getroffen, wobei nur die Fälle mit klassischen chemischen Veränderungen herausgezogen wurden. Die Blutentnahme erfolgte morgens bei nüchternen Patienten; mit 3,8%iger Natriumcitratlösung Verdünnung im Verhältnis 1:10. Nach der Zentrifugation sofortiges Verwerten des Serums bzw. Plasmas.

Es wurden vier Gruppen gebildet:

- I. Kontrollgruppe: Patienten, bei denen klinisch kein Verdacht auf Leberkrankheit bestand.
- II. Patienten mit Stauungsikterus maligner Genese
- III. Patienten mit Stauungsikterus als Folge einer Obstruktion der Gallenwege durch Stein (praeoperativ).
- IV. Patienten nach operativer Beseitigung des obstruierenden Steinhindernisses.

B. Tierexperimente

Für alle Versuche wurden Albino-Wistar-Ratten im Gewicht von 200 - 250 g benutzt. Die Tiere erhielten Standard-Kost und Wasser ad libitum.

Es wurden sechs Gruppen gebildet:

I. Kontrollgruppe (unbehandelte Tiere):

Entbluten der Tiere in Äthernarkose.

II. Applikation von Puromycin:

Hierbei wurde Puromycin-Hydrochlorid in 0,9%iger Kochsalzlösung aufgelöst, so daß eine Konzentration von 5 mg/ml NaCl-Lösung entstand. Den Versuchstieren wurde davon 2 mg/100 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert (29). Nach 24 Stunden Entbluten unter Äthernarkose.

III. Erzeugung einer extrahepatischen Cholestase durch operative Ligatur der Gallengänge:

Unter Äther - Anästhesie, wie z.B. bei ANDREWS (1) wurde ein etwa 2 cm langer Schnitt im oberen Abdomen gemacht und die Gallengänge durch zwei dünne Nylonligaturen unterbunden. Am 12. Tag Entbluten in Äthernarkose.

IV. Extrahepatische Cholestase und Applikation von Puromycin:

Die Cholestase wurde wie bei der Gruppe III erzeugt. Am 12. Tag Injektion von Puromycin i.p. wie bei Gruppe II. Nach weiteren 24 Stunden Entbluten unter Äthernarkose.

V. Erzeugung einer intrahepatischen Cholestase durch orale Applikation von Alpha-Naphthyl-Isothiocyanat (ANIT):

Die Tiere erhielten einmalig 8 Tropfen einer 16%igen Lösung von ANIT in Olivenöl (56), was etwa einer Dosierung von 10 mg/100 g Körpergewicht entspricht. Die Lösung wurde mittels Schlundsonde verabreicht, nach 48 Stunden Entbluten in Äthernarkose.

VI. Intrahepatische Cholestase und Puromycinapplikation:

Erzeugung der Cholestase und wie bei Gruppe V. Nach 48 Stunden Gabe des Puromycin wie bei Gruppe II und IV. Nach 24 Stunden Entbluten in Äthernarkose.

Nach Kontrolle der Gallengangsligatur bei den Gruppen III und IV wurde das Blut mit Plastik-Einmalspritzen und Einmalkanülen aus der Vena cava inferior entnommen, wobei mit 3,8%iger Natriumcitratlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt wurde. Nach der Zentrifugation sofortige Verarbeiten der Seren bzw. Aufbewahrung in der Tiefkühltruhe bei -20°C.

C. Analytische Methodik

Statistische Methodik (8, 24, 46)

Von allen Parametern wurden Mittelwerte und Standardabweichung nach folgenden Formeln berechnet:

A. Mittelwert

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i$$

B. Standardabweichung

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \cdot \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

n = Zahl der Patienten bzw.
Versuchstiere

x_i = i-ter Meßwert

Bei der Patientengruppe wurde die einfache Varianzanalyse berechnet, wobei die Mittelwertsvergleiche nach dem von DUNNET angegebenen Test für den Vergleich mehrerer Gruppen mit einer Normalgruppe erfolgte. Zum Vergleich der Mittelwerte bei den Versuchstieren wurden t - Tests für unverbundene Stichproben gerechnet.

Serumanalysen

Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

Die Bestimmung der Aktivität der SGPT erfolgte nach einer Modifikation der Biochemica-Test-Kombination (Boehringer Mannheim GmbH). Zu 10 ml einer Lösung von 0,08 M DL-Alanin in 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 werden zugegeben

1. 200 μ l 12 mM NADH

2. 200 μ l LDH in einer Konzentration von 0,25 mg/ml.

Von diesem Gemisch werden 200 μ l mit 50 μ l Serum versetzt und nach erneutem Mischen 10 μ l 0,25 M Alpha-Ketoglutarat zugegeben. Der Mittelwert aus den Extinktionsdifferenzen pro min multipliziert mit dem Faktor 2242 ergibt die GPT-Aktivität in mU/ml Serum. Messung bei 25° C in einer Glasküvette von 1 cm Schichtdicke und einer Wellenlänge von 366 nm (Photometer Eppendorf).

Kupfer

Die Kupferkonzentration im Serum wurde in Anlehnung an eine Methode der Merckotest-Reihe der Firma Merck Darmstadt bestimmt. 200 μ l Serum wird mit 100 μ l eines Gemisches aus 0,09 M Hydrochinon und 1 N Salzsäure intensiv durchgemischt und 30 min bei 25° C inkubiert; nach Zugabe von 100 μ l 20%iger Trichlor-essigsäure wird erneut geschüttelt, dann zentrifugiert und vom Überstand 200 μ l in neue Reaktionsgefäße pipettiert. Hierzu kommen dann 100 μ l 0,89 mM Bathocuproindisulfonsäure (als Dinatriumsalz) in 3,0 M Natriumazetat. Analyse und ein Standard (2,0 μ g/ml) werden gegen einen mitangesetzten Leerwert abgelesen. Der Extinktionsquotient aus Analyse und Standard multipliziert mit dem Faktor 200 ergibt die Kupferkonzentration in μ g/100 ml Serum.

Extinktionsmessung in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke bei 25° C und einer Wellenlänge von 436 nm im Photometer Eppendorf (mit Verstärker).

Glutamat-Dehydrogenase (GLDH)

Die Aktivität der GLDH im Serum wurde mit den Reagentien und Hilfsreagentien der Biochemica-Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH bestimmt.

Hierbei wird 1,0 ml Serum mit 0,1 ml 3,2 M Ammoniumazetat und 0,05 ml 0,012 M NADH bei 25° C in 2,00 ml eines Gemisches aus 0,05 M Tri-äthanolaminpuffer pH 8,0 und 0,004 M Äthylendiamintetraazetat inkubiert. Es wird die Extinktionsänderung während 10 min gemessen. Nach Zugabe von 0,05 ml 0,41 M Alphaketoglutarat wird erneut die Lichtabsorption während 10 min registriert. Die Differenz beider Werte multipliziert mit dem Faktor 97,0 ergibt die GLDH-Aktivität in mU/ml Serum.

Messung in Glasküvette von 1 cm Schichtdicke im Photometer Eppendorf bei einer Wellenlänge von 366 nm.

alkalische Phosphatase

Die Serumaktivität der alkalischen Phosphatase wurde mit Hilfe der Biochemica-Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH gemessen.

Bei 25° C wird 10 µl Serum mit 1,00 ml eines Gemisches aus 0,01 M p-Nitrophenylphosphat, 0,05 mM Magnesiumchlorid und 1,0 M Diäthanolamin-HCl - Puffer pH 9,8 inkubiert; während drei min wird die Extinktionsdifferenz pro min abgelesen. Der Mittelwert der Extinktionsdifferenzen pro min multipliziert mit dem Faktor 5460 ergibt die Enzymkonzentration in mU/ml Serum. Ablesen bei 25° C in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke im Photometer Eppendorf bei einer Wellenlänge von 405 nm (mit Hg-Filter).

Bilirubin

Die Bilirubinkonzentration im Serum wurde als Gesamt-Bilirubin nach der Biochemica-Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH bestimmt.

250 µl Serum werden mit 250 µl 0,029 M Sulfanilsäure in 0,17 N Salzsäure, 10 µl 0,025 M Natriumnitrit und 1,0 ml 0,077 M Coffein-Natriumbenzoat gemischt und bei 25° C 10 min inkubiert; nach Zugabe von 0,93 M Tartrat in 1,9 N Natronlauge wird erneut gemischt und die Analyse nach 5 min gegen einen Leerwert abgelesen. Die Extinktionsdifferenz multipliziert mit dem Faktor 9,0 ergibt die Konzentration des Gesamt-Bilirubin in mg/100 ml Serum. Ablesung bei 25° C in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke bei einer Wellenlänge von 578 nm mit Hg-Filter (Photometer Eppendorf).

Cholesterin

Die Cholesterin-Konzentration im Serum wurde nach der Biochemica-Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH bestimmt.

20 µl Serum wird in 1 ml eines Gemisches aus 50 mM Dimethylbenzolsulfonsäure, 7,0 M Essigsäure und 6,5 M Essigsäureanhydrid gegeben und 10 min bei 25° C inkubiert. Unter Schütteln werden 200 µl konzentriert Schwefelsäure zugegeben. Nach 20 min wird die Analyse und ein mitangesetzter Standard (2 mg Cholesterin/ml Eisessig) gegen einen Leerwert abgelesen. Der Quotient der Extinktionen von Analyse und Standard multipliziert mit dem Faktor 200 ergibt die Cholesterinkonzentration in mg/100 ml Serum.

Messung bei 25° C in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke bei einer Wellenlänge von 578 nm im Photometer Eppendorf.

Caeruloplasmin

Die Caeruloplasminkonzentration wurde nach der Phenoloxydase-methode bestimmt.

Es wird zunächst eine Lösung von 7,95 mM p-Phenylendiamin-Di-hydrochlorit in 0,43 M Azetatpuffer pH 5,6 angesetzt, wobei der Puffer eventuell mit 0,1 N Natronlauge bis zum angegebenen pH korrigiert wird. Es wird nun 1,0 ml dieser Lösung mit 20 μ l Serum 15 min bei 25° C inkubiert; dann werden 200 μ l 460 mM Natriumazid zugegeben. Nach weiteren 15 min wird die Analyse und ein mitangesetzter Leerwert gegen aqua dest. abgelesen. Die Extinktionsdifferenz zwischen Analyse und Leerwert multipliziert mit dem Faktor 237 ergibt die Caeruloplasminkonzentration in mg/100 ml Serum.

Ablesung in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke bei einer Wellenlänge von 546 nm im Zeiss-Photometer.

Haptoglobin

Haptoglobin wurde nach der von JAYLE angegebenen Methode (17) bestimmt.

In einem Erlenmeyerkolben wird ein Gemisch aus 10 ml 0,1 N Natriumazetatpuffer pH 4,4, 0,5 ml 0,01 N Jodlösung und 1 ml auf 0,11 N verdünntes Äthylhydrogenperoxyd (ursprünglich 2-3 N) angesetzt. Der Inhalt dieses Kolbens wird in einen zweiten gegeben, in dem sich 0,02 ml Serum, 0,1 ml 1:40 verdünnte Hämoglobinstammlösung und 3,0 ml 0,1 N Kaliumjodidlösung befinden. Es wird gemischt und nach 5 min unter Zugabe von 2 Tropfen einer 2%igen Stärkelösung mit 0,01 N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ bis zum Umschlag der Farbe nach farblos titriert. Die Differenz der Titrationsmenge in ml und einem Leerwert multipliziert mit dem Faktor 207 und einem temperaturabhängigen Faktor ergibt die Konzentration des Haptoglobin in $\frac{100}{\text{ml}}$ Serum.

Cholinesterase

Die Cholinesteraseaktivität im Serum wurde nach der Biochemica-Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH bestimmt.

0,02 ml Serum wird mit 0,1 ml 0,156 M Azetylthiocholin-jodid in 3,0 ml eines Gemisches aus 0,25 mM Dithiobisnitrobenzoesäure und 50 mM Phosphatpuffer bei 25 °C inkubiert. Es wird der Mittelwert aus einigen Extinktionsdifferenzen pro 30 sec gebildet und mit dem Faktor 23400 multipliziert. Dieser Wert entspricht der Aktivität in mU/ml Serum.

Messung in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke bei einer Wellenlänge von 405 nm. Als Photometer wurde das Gerät der Firma Eppendorf benutzt.

Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT)

Die Bestimmung der Aktivität der GOT im Serum erfolgte mit der Biochemica-Test-Kombination der Boehringer Mannheim GmbH.

Zu 10 ml einer Lösung von 0,04 M L-Asparat in 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,4 werden zugegeben

1. 200 μ l 12 mM NADH
2. 200 μ l eines Gemisches aus MDH und LDH,
jeweils in der Konzentration 0,25 mg/ml.

Von diesem Gemisch werden 200 μ l mit 50 μ l Serum versetzt und nach erneutem Mischen 10 μ l 0,25 M Alpha-Ketoglutarat zugegeben. Der Mittelwert aus den Extinktionsdifferenzen pro min multipliziert mit dem Faktor 2242 ergibt die GOT-Aktivität in mU/ml Serum. Messung bei 25° C in einer Glasküvette von 1 cm Schichtdicke. Gemessen wurde im Photometer Eppendorf bei einer Wellenlänge von 366 nm.

Eisen

Die Eisenkonzentration im Serum wurde in Abwandlung einer Mercko-test-Methode der Firma Merck Darmstadt bestimmt.

200 μ l 0,68 mM Bathophenanthrolindisulfonsäure in 0,4 M Natriumphosphatpuffer pH 5,5 werden mit 200 μ l Serum und 10 μ l Natriumascorbat einer Konzentration von etwa 5 mg/ml intensiv gemischt

und 20 min bei 37° C inkubiert. Die Extinktionsdifferenz zwischen Analyse und einem mitangesetzten Leerwert multipliziert mit dem Faktor 568 ergibt die Eisenkonzentration in $\mu\text{g}/100 \text{ ml Serum}$.
Ablesung bei 546 nm im Photometer Eppendorf mit Halbmikroküvetten von 1 cm Schichtdicke.

Leucin-aminopeptidase (LAP)

Die Aktivität der LAP wurde mit den Reagentien und Hilfsreagentien der Boehringer Mannheim GmbH bestimmt.

3,0 ml 50 mM Phosphatpuffer pH 7,2 und 100 μl 25 mM L-Leucin-p-nitranilid werden 5 min bei 25° C inkubiert. Nach Zugabe von 100 μl Serum wird gemischt und die Extinktion gemessen; nach 30 min Inkubationszeit bei 25° C wird erneut die Extinktion gemessen. Die Differenz beider Werte multipliziert mit dem Faktor 108 ergibt die Aktivität der LAP in mU/ml Serum .
Messung bei 25° C in Glasküvetten von 1 cm Schichtdicke; Wellenlänge 405 nm (Photometer Eppendorf).

Thromboplastinzeit nach QUICK

Die Thromboplastinzeit nach QUICK wurde mit den Testlösungen der Behringwerke AG Marburg/Lahn bestimmt. Zur Objektivierung des Gerinnungseintritts wurde das Coagulometer nach SCHNITGER und GROSS der Firma Amelung, 4922 Brake, benutzt.

100 μl Citratplasma wird mit 200 μl Calcium-Thromboplastin (auf 37° C vorgewärmt) gemischt und die Zeit bis zum Gerinnungseintritt in sec abgelesen. Mit Hilfe einer Eichkurve wird der Wert in QUICK-Prozent umgerechnet.

III. Ergebnisse:

n Anzahl der Patienten bzw.
Versuchstiere

$\bar{x}$ Mittelwert

s Standardabweichung

++ $p \leq 1\%$

+ $1\% < p \leq 5\%$

- $p > 5\%$

Patienten

Gruppe I	Kontrollgruppe
Gruppe II	maligner Stauungsikterus
Gruppe III	benigner Stauungsikterus (prae operationem)
Gruppe IV	benigner Stauungsikterus (post operationem)

Versuchstiere

Gruppe I	Kontrollgruppe
Gruppe II	Puromycinapplikation
Gruppe III	extrahepatische Cholestase
Gruppe IV	extrahepatische Cholestase + Puromycinapplikation
Gruppe V	intrahepatische Cholestase (ANIT)
Gruppe VI	intrahepatische Cholestase (ANIT) + Puromycinapplikation

Tabelle der Serumwerte (Patienten)

	Gruppe I (n=68)		Gruppe II (n=18)		Gruppe III (n=21)		Gruppe IV (n=11)	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
Bilirubin (mg/100 ml)	0.7	0.4-1.1	10.7	3.1-18.6	8.8	4.4-14.4	1.2	0.5-165.0
alk. Phosph. (mU/ml)	31.0	16.0-59.0	153.0	60.0-320.0	141.0	58.0-330.0	48.2	29.0-80.0
Kupfer (μ g/100 ml)	101.0	74.0-137.0	215.0	151.0-300.0	209.0	151.0-285.0	124.0	80.0-192.0
Eisen (μ g/100 ml)	97.0	69.0-135.0	38.6	18.0-84.0	45.7	21.0-99.0	85.6	55.0-135.0
SGOT (mU/ml)	9.1	4.6-18.0	61.5	21.0-176.0	54.6	19.0-155.0	15.1	5.7-40.0
SGPT (mU/ml)	9.5	5.0-17.0	81.0	31.0-200.0	74.0	36.0-151.0	22.0	9.0-49.0
Quick (%)	96.0	84.0-100.0	44.0	30.0-56.0	51.0	36.0-66.0	95.0	86.0-100.0
Haptogl.(mg/100 ml)	88.5	71.4-105.6	178.4	141.4-215.4	175.3	152.1-196.3	89.8	69.7-107.6
Caerulo.(mg/100 ml)	36.6	26.6-46.6	75.5	55.5-95.5	67.3	47.4-87.2	40.6	26.1-56.1

Tabelle der Serumwerte (Tierversuche)

	Gruppe I (n = 18) $\bar{x} \pm s$	Gruppe II (n = 16) $\bar{x} \pm s$	Gruppe III (n = 17) $\bar{x} \pm s$	Gruppe IV (n = 15) $\bar{x} \pm s$	Gruppe V (n = 16) $\bar{x} \pm s$	Gruppe VI (n = 14) $\bar{x} \pm s$
Bilirubin (mg/100ml)	0.2 $\pm$ 0.1	0.2 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.9	3.7 $\pm$ 1.1	0.6 $\pm$ 0.2	0.5 $\pm$ 0.1
alk. Phosph. (mU/ml)	193.0 $\pm$ 41.4	161.8 $\pm$ 50.8	371.8 $\pm$ 95.8	530.3 $\pm$ 121.2	389.4 $\pm$ 96.2	335.2 $\pm$ 89.6
Kupfer (µg/100 ml)	145.3 $\pm$ 19.9	131.7 $\pm$ 11.8	354.2 $\pm$ 47.8	347.5 $\pm$ 52.8	213.7 $\pm$ 31.4	211.2 $\pm$ 48.1
SGOT (mU/ml)	41.7 $\pm$ 7.1	39.0 $\pm$ 6.6	97.2 $\pm$ 15.9	93.3 $\pm$ 22.1	79.8 $\pm$ 14.4	79.7 $\pm$ 11.7
SGPT (mU/ml)	11.2 $\pm$ 2.7	9.8 $\pm$ 2.3	13.3 $\pm$ 3.8	16.7 $\pm$ 3.7	18.4 $\pm$ 5.2	18.6 $\pm$ 4.1
GLDH (mU/ml)	0.8 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 0.4	2.5 $\pm$ 1.0	1.9 $\pm$ 1.1	3.2 $\pm$ 1.4	3.1 $\pm$ 1.6
Cholest.(mg/100ml)	92.4 $\pm$ 20.3	78.0 $\pm$ 13.9	160.3 $\pm$ 31.4	130.6 $\pm$ 28.7	140.5 $\pm$ 29.9	141.2 $\pm$ 22.6
Haptogl.(mg/100 ml)	29.7 $\pm$ 3.1	27.2 $\pm$ 3.2	79.2 $\pm$ 14.6	49.4 $\pm$ 10.5	60.1 $\pm$ 8.2	31.8 $\pm$ 7.8
Caerula(mg/100ml)	42.9 $\pm$ 4.9	35.1 $\pm$ 3.9	121.2 $\pm$ 15.8	74.4 $\pm$ 17.3	75.8 $\pm$ 10.2	59.4 $\pm$ 5.9
Ch. Esterase(mU/ml)	341.8 $\pm$ 6.2	339.2 $\pm$ 46.9	326.6 $\pm$ 40.0	244.4 $\pm$ 41.2	291.2 $\pm$ 43.5	257.6 $\pm$ 17.2

Vergleich der Serumwerte der
Gruppen III und IV mit der
Kontrollgruppe (Patienten)

	Gruppe III	Gruppe IV
Bilirubin	++	-
alk. Phosphatase	++	+
Kupfer	++	+
Eisen	++	-
SGOT	++	+
SGPT	++	++
Quick	++	-
Haptoglobin	++	-
Ceruloplasmin	++	-

++ statistisch signifikant

+ statistisch auffällig

- keine statistische Signifikanz

Vergleich der Serumwerte von
Gruppe II mit der Kontrollgruppe
(Patienten)

Bilirubin	++
alk. Phosphatase	++
Kupfer	++
Eisen	++
SGOT	++
SGPT	++
Quick	++
Haptoglobin	++
Caeruloplasmin	++

- ++ statistisch signifikant
- + statistisch auffällig
- keine statistische Signifikanz

Vergleich der Serumwerte der
Gruppen III und V mit der
Kontrollgruppe (Tierversuche)

	Gruppe III	Gruppe V
Bilirubin	++	++
alk. Phosphatase	++	++
Kupfer	++	++
SGOT	++	++
SGPT	-	++
GIDH	++	++
Cholesterin	++	++
Haptoglobin	++	++
Caeruloplasmin	++	++
Cholinesterase	-	-

++ statistisch signifikant

+ statistisch auffällig

- keine statistische Signifikanz

Vergleich der Serumwerte von
Gruppe III mit Gruppe IV
(Tierversuche)

Bilirubin	-
alk. Phosphatase	-
Kupfer	-
SGOT	-
SGPT	-
GIDH	-
Cholesterin	+
Haptoglobin	++
Caeruloplasmin	++
Cholinesterase	-

++ statistisch signifikant

+ statistisch auffällig

- keine statistische Signifikanz

Vergleich der Serumwerte von
Gruppe V mit Gruppe VI
(Tierversuche)

Bilirubin	-
alk.Phosphatase	-
Kupfer	-
SGOT	-
SGPT	-
GIDH	-
Cholesterin	-
Haptoglobin	++
Caeruloplasmin	++
Cholinesterase	-

++ statistisch signifikant

+ statistisch auffällig

- keine statistische Signifikanz

Bei der Patientengruppe liegen die Werte von Bilirubin (0,7 mg/100 ml), alkalische Phosphatase (31,0 mU/ml), Kupfer (101,0 μ g/100 ml), Eisen (97,0 μ g/100 ml), SGOT (9,1 mU/ml), SGPT (9,5 mU/ml), Thromboplastinzeit nach Quick (96,0 %), Haptoglobin (88,5 mg/100 ml) und Caeruloplasmin (36,6 mg/100 ml) im Bereich der auch von anderen gefundenen Normwerte.

Sowohl bei der malignen als auch bei der benignen Cholestase steigen die charakteristischen klinisch-chemischen Parameter signifikant im Serum an (erster Serumwert in Klammer entspricht der Cholestase maligner Genese, der zweite Werte der Cholestase benigner Ursache):

Bilirubin (10,7 mg/100 ml; 8,8 mg/100 ml), alkalische Phosphatase (153,0 mU/ml; 141,0 mU/ml), Kupfer (215,0 μ g/100 ml; 209,0 μ g/100 ml), SGOT (61,5 mU/ml; 54,6 mU/ml), SGPT (81,0 mU/ml; 74,0 mU/ml), Haptoglobin (178,4 mg/100 ml; 175,3 mg/100 ml) und Caeruloplasmin (75,5 mg/100 ml; 67,3 mg/100 ml).

Der Eisenwert im Serum (38,6 μ g/100 ml; 45,7 μ g/100 ml) und die Thromboplastinzeit nach Quick (44,0 %; 51,0 %) sinken bei beiden Cholestasen signifikant ab.

Nach operativer Beseitigung der Ursache der benignen Cholestase zeigen Bilirubin (1,2 mg/100 ml), alkalische Phosphatase (48,2 mU/ml), Kupfer (124,0 μ g/100 ml), SGOT (15,1 mU/ml), SGPT (22,0 mU/ml), Haptoglobin (89,8 mg/100 ml) und Caeruloplasmin (40,6 mg/100 ml) eine signifikante Erniedrigung im Vergleich zu den Werten vorher (Gruppe III).

Diese Tendenz zur Normalisierung ist auch an der signifikanten Erhöhung der Eisenwerte (85,6 μ g/100 ml) und der Thromboplastinzeit nach Quick (95,0 %), verglichen mit Gruppe III, zu sehen.

Verglichen mit der Normalgruppe waren bei Gruppe IV bei den Werten von Bilirubin, Eisen, Thromboplastinzeit nach Quick, Haptoglobin und Caeruloplasmin keine statistisch signifikanten Unterschiede zu sehen.

Die alkalische Phosphatase ($p < 0,01$), Kupfer ($p < 0,05$) und SGOT ($p < 0,05$) waren statistisch auffällig höher. Nur die Erhöhung der SGPT gegenüber dem Normalwert war noch statistisch signifikant höher.

Bei den Kontrolltieren sind die Serumwerte von Bilirubin ($0,2 \pm 0,1$ mg/100 ml), Kupfer ($145,3 \pm 19,9$ μ g/100 ml), GPT ($11,2 \pm 2,7$ mU/ml) und GLDH ($0,8 \pm 0,3$ mU/ml) etwa im Bereich der menschlichen Normwerte. Cholinesterase ($341,8 \pm 6,2$ mU/ml), Cholesterin ($92,4 \pm 20,3$ mg/100 ml), Haptoglobin ($29,7 \pm 3,1$ mg/100 ml) und Caeruloplasmin ($42,9 \pm 4,9$ mg/100 ml) liegen in ihren Normwerten niedriger, die alkalische Phosphatase ($193,0 \pm 41,4$ mU/ml) höher.

Bei beiden Gruppen mit experimenteller Cholestase (Gruppen III und V) steigen im Serum die dafür charakteristischen klinisch-chemischen Parameter signifikant im Vergleich zur Kontrollgruppe an (erster Wert in Klammer entspricht hierbei extrahepatischer, der zweite Wert intrahepatischer Cholestase): Bilirubin ($4,3 \pm 0,9$ mg/100 ml, $0,6 \pm 0,2$ mg/100 ml), Kupfer ($354,2 \pm 47,8$ μ g/100 ml, $213,7 \pm 31,4$ μ g/100 ml), Cholesterin ($160,3 \pm 31,4$ mg/100 ml, $140,5 \pm 29,9$ mg/100 ml), alkalische Phosphatase ($371,8 \pm 95,8$ mU/ml, $289,4 \pm 96,2$ mU/ml), Caeruloplasmin ($121,2 \pm 15,8$ mg/100 ml, $75,8 \pm 10,2$ mg/100 ml) und Haptoglobin ($79,2 \pm 14,6$ mg/100 ml, $60,1 \pm 8,2$ mg/100 ml); auch die orientierend bestimmte Leucin-aminopeptidase zeigt gegenüber der Kontrolle ($13,0 \pm 1,7$ mU/ml) einen signifikanten Aktivitätsanstieg im Serum ($17,1 \pm 1,8$ mU/ml, $18,0 \pm 2,6$ mU/ml).

Als Zeichen der Zellschädigung sind bei beiden Cholestasen auch die Aktivitäten der SGOT ($97,2 \pm 15,9$ mU/ml, $79,8 \pm 14,4$ mU/ml) und der GLDH ($2,5 \pm 1,0$ mU/ml, $3,2 \pm 1,4$ mU/ml) erhöht; ähnlich findet sich bei einer orientierenden Bestimmung des Serumeisens eine zur Kontrolle ($170,8 \pm 19,1$ μ g/100 ml) signifikante Erhöhung ($207,5 \pm 29,5$ μ g/100 ml, $242,8 \pm 38,5$ μ g/100 ml).

Eine signifikante Aktivitätssteigerung der SGPT war nur bei der ANIT-Cholestase zu beobachten ($18,4 \pm 5,2$ mU/ml).

Die Cholinesterase zeigte keinen Anstieg ihrer Aktivität im Serum.

Zwischen den Cholestasegruppen III und V bestehen bei den Werten von Bilirubin, Kupfer, Haptoglobin und Caeruloplasmin in Bezug auf den Ausprägungsgrad der Cholestase signifikante Unterschiede, und zwar sind die Serumwerte bei der extrahepatischen Form höher (Werte der extrahepatischen Cholestase als erste genannt): Bilirubin ($4,3 \pm$

0,9 mg/100 ml, $0,6 \pm 0,2$ mg/100 ml), Kupfer ($354,2 \pm 47,8$ μ g/100 ml, $213,7 \pm 31,4$ μ g/100 ml), Caeruloplasmin ($121,2 \pm 15,8$ mg/100 ml, $75,8 \pm 10,2$ mg/100 ml), Haptoglobin ($79,2 \pm 14,6$ mg/100 ml, $60,1 \pm 8,2$ mg/100 ml).

Die Aktivität der SGPT war nach ANIT-Applikation ($18,4 \pm 5,2$ mU/ml) statistisch auffällig ($p < 0,0025$) höher als bei extrahepatischer Gallengangsligatur ($13,3 \pm 3,8$ mU/ml).

Der Vergleich zwischen Kontrollgruppe (I) und der Gruppe nach Applikation von Puromycin (II) zeigte bei keinem Serumwert statistisch signifikante Veränderungen.

Bei der extrahepatischen Cholestase (Gruppe III) finden sich im Vergleich zur Gruppe IV (extrahepatische Cholestase und Puromycinapplikation) die Proteine Haptoglobin ($49,4 \pm 10,5$ mg/100 ml) und Caeruloplasmin ($74,4 \pm 17,3$ mg/100 ml) signifikant erniedrigt. Statistisch auffällig ist mit $p < 0,005$ die Erniedrigung der Cholesterinkonzentration im Serum ($130,6 \pm 28,7$ mg/100 ml).

Die alkalische Phosphatase ist bei Gruppe IV verglichen mit der ANIT-Gruppe signifikant erhöht ($530,3 \pm 121,2$ mU/ml).

Im Vergleich mit Gruppe V sind in Gruppe VI ebenfalls Haptoglobin ($31,8 \pm 7,8$ mg/100 ml) und Caeruloplasmin ($59,4 \pm 5,9$ mg/100 ml) signifikant vermindert. Die anderen Serumwerte verändern sich nicht.

Vergleicht man die Cholestasegruppen IV und VI miteinander, so sind - ähnlich wie beim Vergleich der Gruppen III und V - die Werte von Bilirubin ($3,7 \pm 1,1$ mg/100 ml, $0,5 \pm 0,1$ mg/100 ml), Kupfer ($347,5 \pm 52,8$ μ g/100 ml, $211,2 \pm 48,1$ μ g/100 ml), alkalische Phosphatase ($530,3 \pm 121,2$ mU/ml, $335,2 \pm 89,6$ mU/ml) und Haptoglobin ($49,4 \pm 10,5$ mg/100 ml, $31,8 \pm 7,8$ mg/100 ml) bei der extrahepatischen Form signifikant höher.

Im Vergleich der Caeruloplasminwerte ($74,4 \pm 17,3$ mg/100 ml, $59,4 \pm 5,9$ mg/100 ml) zeigt sich bei Gruppe IV eine statistisch auffällige ($p < 0,0025$) Erhöhung.

Die GLDH jedoch hat eine größere Aktivitätssteigerung bei der mit ANIT und Puromycin behandelten Gruppe (Gruppe IV: $1,9 \pm 1,1$ mU/ml, Gruppe VI: $3,1 \pm 1,6$ mU/ml).

IV. Diskussion

Cholestase wurde früher als Störung des Galleabflusses im Sinne einer Cholangiolitis aufgefaßt. Es hat sich jedoch gezeigt, daß sie wahrscheinlich Folge einer hepatozellulären Ausscheidungsstörung von di- und trihydroxylierten Gallensäuren ist (43).

Auch elektronenoptisch (51) wurde dies bestätigt: es finden sich erweiterte Gallecanaliculi, eine Abstumpfung oder ein Fehlen der Mikrovilli, die perikanalikuläre Zone ist verbreitert; sekundär erst werden die Cholangiolen und die Ductuli verändert. Mit dem Elektronenmikroskop lassen sich extra- und intrahepatische Cholestase nicht voneinander abgrenzen.

Nach ANIT sieht man nach 48 Stunden Vergiftungsdauer histologisch Befunde, die einer menschlichen Gallestauung entsprechen: Erweiterung der Gallengänge mit Verlust des Gallengangsepithels, vermehrte Sprossung von Gallengängen, in der Läppchen-peripherie Einzelzellenkrosen und kleine entzündliche Infiltrate (21,56). Ursächlich scheint hierbei ANIT direkt am Gallesekretionsapparat (3) oder am Bilirubinstoffwechsel anzugreifen(9). Puromycin, dessen Wirkungsweise als Inhibitor der Proteinsynthese durch seine Ähnlichkeit mit dem Ende der Aminoacyl-sRNA erklärt (61). Es nimmt so, katalysiert durch eine Peptidyl-Transferase (37), die wachsende Polypeptidkette auf. Das weitere Wachstum des Polypeptids wird wahrscheinlich dadurch limitiert, daß sich das Puromycin mit der Acceptor-Seite des Peptidketten-bildenden Enzyms verbindet (33) und mit seiner freien Aminogruppe eine Peptidbindung mit der Carboxyl-Gruppe der wachsenden Peptidkette eingeht (32). Die Peptidkette wird dann von den Ribosomen getrennt und dadurch die Proteinsynthese unterbrochen. Nach neueren Arbeiten (54) hat Puromycin selbst keinen direkten Einfluß auf die Reifungsblockade des Ribosoms; für diesen Effekt könnte eher ein unter Puromycinapplikation entstandenes Zellprodukt verantwortlich sein.

Bei der experimentellen intra- und extrahepatischen Cholestase der Ratte wurden in unseren Untersuchungen Störungen im Sekretionsmechanismus des Hepatozyten gefunden, was sich durch die Erhöhung des Serumspiegels von Kupfer, Bilirubin und Cholesterin indirekt zeigen läßt. Ebenso ist die Serumaktivität der sogenannten Sekretionsenzyme alkalische Phosphatase und Leucin-aminopeptidase gesteigert.

Auch bei Patienten mit malignem und benignem Verschlúßikterus wurden Erhóhungen der gleichen Serumparameter gefunden. Gleichzeitig sind - bei der Patientengruppe und bei den Versuchstieren - die hepatisch gebildeten Proteine Haptoglobin und Caeruloplasmin im Serum erhóht. Im Tierexperiment blieben nach Puromycin die klinisch-chemischen Parameter der Cholestase: alkalische Phosphatase, Kupfer und Bilirubin unverändert, während die hepatozellulär gebildeten Proteine Haptoglobin und Caeruloplasmin signifikant abfielen. Im Gegensatz dazu normalisierten sich bei der Patientengruppe nach operativer Revision des Gallengangverschlusses alle charakteristischen Serumwerte. Es kann deshalb bei Cholestase eine symptomatische, unspezifische, anabole Reaktion des Hepatozyten vermutet werden.

Von MAUNG et al. (29) wurde eine ähnliche unspezifische Reaktion als Folge einer experimentellen Entzündung bei der Ratte beschrieben: nach subkutaner Terpentininjektion stieg als Zeichen der de-novo-Synthese der Haptoglobin- und Seromucoidspiegel im Blutserum an. Diese symptomatische Synthesesteigerung hepatisch gebildeter Proteine konnte wie bei unseren Versuchen durch Puromycin gehemmt werden.

Auch die Arbeiten von OVE et al. (35) zeigten eine der möglichen Ursachen der hepatischen Proteinsynthesesteigerung. OVE fand in der Rattenleber nach Stress und partieller Hepatektomie eine Eiweißvermehrung und vermutete eine verminderte Stabilität des Kern-ATP und des ATP der Zelle.

Ähnlich wurde auch bei RICHTER et al. bei experimenteller ANIT-Cholestase beobachtet, daß nach Inkubation von Rattenleberschnitten mit ^{14}C -markierter Asparaginsäure und Glycin eine Steigerung der Proteinsynthese in der Leber - und parallel dazu - der Cholesterinsynthese stattfindet (26). Nach gleichzeitiger Gabe von ANIT und dem Proteinsyntheseinhibitor Cycloheximid zeigte sich im Vergleich zur reinen ANIT-Cholestase ein Abfall sowohl der Lebereiweißsynthese als auch der Serumparameter der Cholestase (alkalische Phosphatase, Leucin- α -amino-peptidase, Bilirubin und Cholesterin) und der hepatozellulären Schädigung (SGPT) (47). Diese Veränderung der Serumwerte - die auch von KATTERMANN beobachtet wurde (20) - wurde bei unseren Versuchen nicht gesehen, wahrscheinlich wegen der verwendeten Antimetaboliten und der unterschiedlichen Applikationsfolge.

In anderen Untersuchungen von RICHTER et al. (48) zeigte sich, daß auch bei Patienten mit akuter Hepatitis die Proteinsynthese - wohl im Sinne einer pathologisch anabolen Reaktion - gesteigert ist. Unter Glukokortikoidbehandlung normalisierte sich diese pathologische Stoffwechselsteigerung.

Die in der Einleitung erhobenen Fragen lassen sich wie folgt beantworten:

1. Bei der intra- und extrahepatischen Cholestase des Menschen und der experimentellen Cholestase der Ratte sind im Serum die entsprechenden klinisch-chemischen Parameter eindeutig verändert. Auch kommt es in allen Fällen zu einer Erhöhung der hepatisch gebildeten Serumproteine Haptoglobin und Caeruloplasmin.
2. Im Tierexperiment können durch Puromycin die erhöhten hepatischen Proteine gehemmt werden.
3. Die klinisch-chemischen Parameter für Cholestase und Leberparenchymschädigung werden durch Puromycin nicht verändert, so daß die gesteigerte Proteinsynthese in der Leber als symptomatisch angesehen werden kann.

V. Zusammenfassung:

Es sollte festgestellt werden, wie sich bei Cholestase die Proteinsyntheserate und einige klinisch-chemische Serumparameter verhalten und ob nach Aufhebung der Cholestase bzw. nach Applikation eines Antimetaboliten bei diesen eine Veränderung eintritt. Aus einem Patientenkollektiv wurden Gruppen mit Stauungsikterus maligner Genese und benigner Cholestase prae und post operationem gebildet und mit einer Kontrollgruppe verglichen. Bei den Tierexperimenten wurden Gruppen mit extra- und intrahepatischer Cholestase vor und nach der Applikation des Antimetaboliten Puromycin angelegt. Als Parameter der Sekretionsfähigkeit des Hepatozyten wurden im Serum Kupfer, Bilirubin, Cholesterin, alkalische Phosphatase und Leucinaminopeptidase bestimmt; als Indikatoren der Syntheseleistung dienten Haptoglobin, Caeruloplasmin, Cholinesterase und die Thromboplastinzeit nach QUICK; über den Ausmaß der hepatozel-

lulären Schädigung gaben die Transaminasen, die Glutamatdehydrogenase und Eisen Auskunft.

Bei Patienten mit maligner und benigner Cholestase prae operationem waren die gemessenen Parameter der Sekretionsfähigkeit und der Syntheseleistung erhöht; postoperativ sanken Haptoglobin und Caeruloplasmin wieder auf den Normalwert herab. Ähnlich zeigte sich im Tierexperiment bei beiden Cholestasen ein Anstieg der Sekretionsparameter und der hepatisch gebildeten Eiweisse Haptoglobin und Caeruloplasmin. Nach Gabe von Puromycin zeigten jedoch nur die beiden letztgenannten Proteine Tendenz zur Normalisierung. Dies entspricht der von anderen Autoren beobachteten Steigerung der hepatischen Proteinsynthese bei Cholestase, Hepatitis und unspezifischer Entzündung, und kann als reaktiver, symptomatischer Vorgang ohne ätiologischen Krankheitsbezug aufgefaßt werden.

VI. Literatur

- (1) ANDREWS W.H.H., DEL RIO LOZANO I.:
The effect of biliary obstruction in the rat on
sulphobromophthalein metabolism and hepatic storage.
Brit. J. exp. Path. 49 (1968), 340
- (2) BECKER B.A., PLAA G.L.:
The nature of alpha-naphthylisothiocyanate-induced
cholestasis.
Toxicol, appl. Pharmacol. 7 (1965), 680
- (3) BECKER B.A., PLAA G.L.:
Quantitative and temporal delineation of various
parameters of liver dysfunction due to alpha-
naphthylisothiocyanat..
Toxicol, appl. Pharmacol. 7 (1965), 708
- (4) BENGMARK S., EDLUND Y., OLSSON R.:
Serum, liver and bile transaminases during extrahepatic
biliary obstruction in the rat.
Acta hepato-splenol. (Stuttgart) 13 (1968), 84
- (5) BENGMARK S., EKHOLM R., OLSSON R.:
Transaminase activity in subcellular fractions of
normal and regenerating rat liver.
Acta hepato-splenol. (Stuttgart) 14 (1967), 80
- (6) BÖRNIG H., STEPAN I., HORN A., GIERTLER R., THIELE G.,
VECEREK B.:
Intrazelluläre Verteilung der Isoenzyme der alkalischen
Phosphatase der Rattenleber und ihr Verhalten nach Unter-
bindung des Ductus choledochus.
Z. physiol. Chem. 348 (1967), 1311
- (7) CHRISTOFFERSSON E., EDLUND Y., KEWENTER Y.:
Serum alkaline phosphatase and transaminases in prolonged
extrahepatic cholestasis in rabbits and rats.
Acta hepato-splenol. (Stuttgart) 12 (1965), 231
- (8) Documenta Geigy, Wissenschaftliche Tabellen, 6. Auflage,
1960.
J.R. Geigy AG, Pharmazeutische Abteilung

- (9) GARAY E.A.R., PICCALUGA A., PEREZ V., ROSER M.,
LISTRANY J.:
Acute cholestasis in the rat.
Acta hepato-splenol. (Stuttgart) 16 (1969), 221
- (10) GOLDFARB S., SINGER E.S., POPPER H.:
Experimental cholangitis due to Alpha-naphthyliso-
thiocyanate (ANIT).
Amer. J. Path. 40 (1962), 685
- (11) GRAF H.:
Die Bedeutung des Caeruloplasmins bei Collumkarzinomen
verschiedener Stadien.
Med. Welt 19 (1965), 1059
- (12) GRENSPAN E.M., DREILING D.A.:
Serum mucoprotein level in differentiation of
hepatogenic and obstructive jaundice.
Arch. intern. Med. 91 (1953), 474
- (13) HANFTOVA D., SLAVICEK J., FIALOVA J.:
Serum ceruloplasmin in obstructive jaundice.
Gastroenterologia (Basel) 108 (1967), 317
- (14) HAUSS W.H., JUNGE-HÜLSING G., MANITZ G., KÖNIG F.:
Über die Aktivität des Mesenchymstoffwechsels bei
krankhaften Prozessen in der Leber.
D-tsch. med. Wschr. 80 (1963), 811
- (15) HEILMEYER L.:
Die Allgemeinreaktionen der Entzündung und ihre klinische
Bedeutung unter besonderer Berücksichtigung der Plasmafermente.
Münch. med. Wschr. 101 (1959), 689
- (16) HENNING W., HOPPE H.:
Die Haptoglobine und ihre klinische Bedeutung.
Ärztl. Lab. 9 (1963), 343
- (17) JAYLE M.:
Méthode de dosage de l'haptoglobine serique.
Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 33 (1951), 876

- (18) KALLAI L., KELLER-BACOKA M., BLAZEVIC K., KNEZEVIC S.:
The interpretation of haptoglobin values in the
diagnosis of liver disease.
Gastroen-terologia (Basel) 105 (1966), 27
- (19) KAPLAN M.M., RIGETTI A. :
Induction of rat liver alkaline phosphatase:
the mechanism of serum elevation in bile duct obstruction.
J. clin. Invest. 49 (1970), 508
- (20) KATTERMANN R., CREUTZFELD W.:
Lipid synthesis in rat liver in experimental cholestasis.
V. International Meeting in the international Association
for Study of the Liver.
Karlsbad 1968.
- (21) KATTERMANN R.:
Leberschaden und Lipidstoffwechsel. I. Lipide, Bilirubin
und Enzymaktivitäten im Plasma bei der experimentellen
Cholestase an der Ratte.
Acta hepato-splenol. (Stuttgart) 1 (1970), 36
- (22) KLUTHE R., MEYER P.:
Bestimmung des Alpha₂-Haptoglobinspiegels bei Nierener-
krankungen.
Klin. Wschr. 39 (1961), 205
- (23) KLUTHE R., LUMMA R., MÜLLER W., MÜLLER H.:
Methodik und klinische Bedeutung der quantitativen Be-
stimmung des Alpha₂-Serumhaptoglobins.
Z. klin. Chem. 1 (1963), 42
- (24) KOLLER S.:
Statistische Auswertungsmethoden. In: RAUER H.M.
(Hrsg.): Biochemisches Taschenbuch 2. Teil, 2. Auflage,
S. 959-1064, Berlin 1964
- (25) KÜHN H.A., RICHTER E.:
Zur Pathophysiologie und zur Klinik der intrahepatischen
Cholestase.
Med.Klin. 65 (1970), 1

- (26) LEINWEBER B., RICHTER E., KÜHN H.A.:
Histologische Befunde und Proteinsynthese der
Rattenleber bei ANIT-Cholestase.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75. Kongress (1969), 365
- (27) LOMBART C., NEBUT M., OLLIER M.P., JAYLE M.F.,
HARTMANN L.:
Synthèse hépatique de l'haptoglobine (étude expérimentale
chez le rat).
Rev. franc. Etud. clin. biol. XIII (1968) , 258
- (28) LORENTZ K.:
Zur Dignität der Zörruloplasminbestimmung in der
Enzymdiagnostik von Leberkrankheiten.
Schweiz. med. Wschr. 99 (1969), 600
- (29) MAUNG M., BAKER D.G., MURRAY R.K.:
Studies on the nature of the seromucoid and haptoglobin
responses to the experimental inflammation.
Canad. J. Biochem. 46 (1968), 477
- (30) MC DERMOTT J.A., HUBER C.T., OSAKI S., FRIEDEN E.:
Role of iron in the oxidase activity of ceruloplasmin.
Biochim. biophys. Acta 151 (1968), 541
- (31) MURRAY R.K., CONNELL G.E., PERT J.H.:
The role of haptoglobin in the clearance and distribution
of extracorpuseular hemoglobin.
Blood 17 (1961), 45
- (32) NATHANS D.:
Inhibition of protein synthesis by puromycin.
Fed. Proc. 23 (1964), 984
- (33) NATHANS D.:
Puromycin inhibition of protein synthesis: the incorporation
of puromycin in peptide chains.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 51 (1964), 585

- (34) NYMANN M.:
Haptoglobin in pernicious anemia.
Scand. J. clin. Lab. Invest. 9 (1957), 168
- (35) OVE P., TAKAI S.I., UMEDA T., LIEBERMANN I.:
Adenosine triphosphate in liver after partial
hepatectomie and acute stress.
J. biol. Chem. 242 (1967), 4963
- (36) OWEN J.A., ROBERTSON R.F.:
Paper electrophoresis of serum proteins in hepato-
biliary disease.
Lancet II (1956), 1125
- (37) PANET A., DE GROOT N., LAPIDOT Y.:
Substrate specificity of Escherichia coli peptidyl-
transferase.
Europ. J. Biochem. 15 (1970), 222
- (38) PETERS J.H., ALPER A.C.:
Haptoglobin synthesis. II. Localization studies.
J. clin. Invest. 45 (1966), 314
- (39) PLAA G.L., ROGERS L.A., FOUTS J.R.:
Effects of acute alpha-naphthylisothiocyanate administration
on hepatic microsomal drug metabolism in the mouse.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 119 (1965), 1045
- (40) POPPER H. In BECK K. (Hrsg.): Ikterus.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 1968, S. 163
- (41) POPPER H.:
Panel discussion on drug injury. V. International Meeting
of the International Association for the Study of the
Liver, Prag 1968
- (42) POPPER H.: Intrahepatische Cholestase. In:
Intrahepatische Cholestase. In: Aktuelle Hepatologie.
III. Lebersymosion Vulpera 1968, G. Thieme, Stuttgart, 1969.

- (43) POPPER H., MEDLINGE A.:
Die "Organellen-Pathologie". Ihre Bedeutung bei der
Beurteilung von Leberfunktionsproben.
Münch. med. Wschr. 131 (1969), 1569
- (44) POPPER H., SCHAFFNER F.:
Drug induced hepatic injury.
Ann. intern.Med. 51 (1959), 1230
- (45) PRELLWITZ W., HAMMAR C.-H., DUDECK J.:
Haptoglobin und Caeruloplasmin bei Krankheiten
der Leber und der Gallenwege.
Dtsch. med. Wschr. 26 (1968), 1277
- (46) RENNER E.:
Mathematisch-statistische Methoden in der
praktischen Anwendung.
Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg, 1970
- (47) RICHTER E., GRÜN M., KÜHN H.A.:
Proteinsynthese und Ikterus bei der ANIT-Cholestase
der Ratte.
Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 75 (1969), 367
- (48) RICHTER E., ROTTER S., LEINWEBER B., LIEHR H.,
BRACHTEL D., KÜHN H.A.:
Einfluß der Glukokortikoidbehandlung auf die
Proteinsynthese in Leberpunktaten von Patienten mit
akuter Hepatitis.
Acta hepato-splenol. (Stuttgart) 17 (1970), 84
- (49) ROBERTS R.J., PLAA G.L.:
The effect of bile duct ligation, bile duct cannulation,
and hypothermia on Alpha-Naphthylisothiocyanate-induced
hyperbilirubinemia and cholestasis in rats.
Gastroenterology 50 (1966), 768
- (50) RÜTTNER J.R., SPYCHER M.A., KUENZLE C.:
Zur Pathologie des Ikterus. Der ANIT-induzierte Ikterus der
Ratte, ein Modell einer durch Zellmembranschädigung bedingten
toxischen Hepatose.
Path.et Microbiol. (Basel) 27 (1964), 403

- (51) SCHAFFNER F., POPPER H.:
Morphologic studies of cholestasis,
Gastroenterology 37 (1959), 565
- (52) SCHIMKE R.T., SWEENEY E.W., BERLIN C.M.:
The roles of synthesis and degradation in the control
of rat liver tryptophan pyrrolase.
J. biol. Chem. 240 (1965), 322
- (53) SEBESTA D.G., BRADSHAW F.J., PROCKOP D.J.:
Source of the elevated serum alkaline phosphatase
activity in biliary obstruction: studies using isolated
liver perfusion.
Gastroenterology 47 (1964), 166
- (54) SOEIRO R., VAUGHAN M.H., DARNELL J.E.:
The effect of puromycin on intranuclear steps in
ribosome biosynthesis.
J. Cell. Biol. 36 (1968), 91
- (55) SPYCHER M.A., RÜTTNER J.R.:
Zur Pathologie des Ikterus. Elektronenmikroskopische
Untersuchungen über die Frühveränderungen der Leber-
parenchymzellen beim alpha-naphthyl-isothiocyanat indu-
zierten Ikterus der Ratte.
Path. et Microbiol. (Basel) 27 (1964), 387
- (56) STEFENELLI N., HOLZNER J.H.:
Experimentelle Cholestase der Ratte durch einmalige Gabe
von Alpha-Naphthyl-Isothiocyanat (ANIT).
Histologisch und enzymhistochemisch erfaßbare Veränderungen
der Leber.
Z. ges. exp. Med. 139 (1965), 762
- (57) STERNLIEB I., MORELL A.G., SCHEINBERG I.H.:
The uniqueness of ceruloplasmin in the study of plasma
protein synthesis.
Trans. Ass. Amer. Phycns 75 (1962), 228

- (58) TRIP J.A.J., QUE G.S., BOTTERWEG-SPAN Y.,
MANDEMA E.:
The behaviour of caeruloplasmin fractions in liver
diseases.
Acta med. Scand. 185 (1969), 279
- (59) UNGAR H., MORAN E., EISNER M., ELIAKIM M.:
Rat intrahepatic biliary tract lesions from
Alpha-naphthylisothiocyanate.
Arch. Path. 73 (1962), 427
- (60) WALSHE J.M. BRIGGS J.:
Caeruloplasmin in liver disease. A diagnostic pitfall.
Lancet II (1962), 263
- (61) YARMOLINSKI M.B., DE LA HABA G.L.:
Inhibition of puromycin of amino acid incorporation
into protein.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 45 (1949), 1721

L e b e n s l a u f

Am 1. Oktober 1944 wurde ich als Sohn des Dr. med. Kurt Erich Schmitz und seiner Ehefrau Marie Antoinette Mathilde Schmitz geb. Augspurger, in Bad Dürkheim geboren.

Ab Ostern 1951 besuchte ich vier Jahre lang die Volksschule in Ludwigshafen / Rhein. Nach bestandener Aufnahmeprüfung wurde ich am 19. April 1955 in das damalige Staatliche Alt- und Neusprachliche Gymnasium Ludwigshafen aufgenommen, wo ich am 23. Februar 1965 die Reifeprüfung abgelegt habe.

Am 6. Mai 1965 wurde ich an der Johannes Gutenberg-Universität mit dem Studienfach Medizin immatrikuliert. An dieser Universität habe ich am 1. April 1966 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, am 13. Oktober 1967 die Ärztliche Vorprüfung und am 14. Dezember 1970 die Ärztliche Prüfung abgelegt.

Seit dem 29. Dezember 1970 bin ich mit Frau Liselotte Sigrid Schmitz-Kessler, geb. Kessler, verheiratet, die im Dezember 1971 ebenfalls ihre Ärztliche Prüfung abgelegt hat.

In meiner Ausbildungszeit als Medizinalassistent war ich ab 1. März 1971 acht Monate in der II. Medizinischen Universitätsklinik Mainz und vier Monate in der Chirurgischen Universitätsklinik Mainz tätig.

Seit dem 17. April 1972 arbeite ich in einer Allgemeinpraxis in Mannheim als Vertreter des erkrankten Arztes.

